

審査の結果の要旨

氏名 廉 鐘旻

核酸分子は、塩基配列依存的に遺伝子発現を制御できることから、次世代の医薬品として期待されている。しかしながら、核酸分子は生体内で分解されやすく、標的細胞への送達効率が著しく低いため、医薬品としてのポテンシャルが十分に発揮されないことが課題となっている。この課題に対して、酵素分解から核酸分子を保護し、標的細胞へと効率的に送達する「核酸キャリア」の研究開発に注目が集まっている。本研究では、高分子材料の化学構造の精密設計を通じて、核酸送達効率を向上させるとともに、送達効率に大きな影響を与える高分子材料パラメーターを明らかにすることを目的としている。以下に各章ごとの概要を述べる。

第1章の序論では、医薬品になり得る代表的な核酸分子である antisense oligonucleotide (ASO) と messenger RNA (mRNA) に関して説明するとともに、それぞれに対する送達技術の現状および課題を述べている。負に帯電した核酸分子とカチオン性高分子の間で形成する高分子ナノ粒子 (polyplex) は、カチオン性高分子の化学構造によって、その安定性、細胞内移行性、および細胞毒性などが調節されるため、有望な核酸キャリアとして述べられている。その中で、mRNA 内包 polyplex の先行研究として、側鎖にカチオン性ジエチレントリアミン (DET) 基と疎水性官能 (R) 基を有するポリアスパラギン酸誘導体 (PAsp(DET/R)) は、細胞外環境における polyplex の安定化と効率的な細胞内移行を実現し、マウス脳室内への局所投与を介して優れた mRNA 送達能を示すことを述べている。その一方で、PAsp(DET/R) から調製される polyplex に対する核酸分子構造の寄与および血流を介した核酸送達への有用性は未だ明らかになっていないことから、これらを明らかにすることを研究目的としている。

第2章では、中分子である ASO の送達における PAsp(DET/R) の有用性および送達効率に対する R 基の寄与を評価している。異なる R 基を有する 8 種類の PAsp(DET/R) と ASO を緩衝液中でそれぞれ混合し、polyplex を調製している。次いで、動的光散乱法と電気泳動光散乱法により、一連の ASO 内包 polyplex は、R 基に関わらず約 100 nm の粒子径および約 30 mV のゼータ電位を有することを

確認している。一方、培養細胞への ASO 送達効率は R 基によって大きく異なり、ASO 送達効率と PAsp(DET/R)の疎水性度 ($\log D$) との間には $\log D$ の閾値が存在し、閾値を超える $\log D$ を有する PAsp(DET/R)は効率的な ASO 送達能を示すことを見出している。この結果は、一定以上の $\log D$ を有する PAsp(DET/R)は ASO との間で安定な polyplex を形成し、細胞内移行率が向上したためと説明されている。以上より、PAsp(DET/R)は、ASO 送達にも有用であり、その送達効率においては $\log D$ が重要なパラメーターであることを明らかにしている。

第 3 章では、シクロヘキシルエチル (CHE) 基を R 基として持つ誘導体 (PAsp (DET/CHE)) が高い送達効率を示した実験結果に基づき、さらに効率的な mRNA 送達能を得るために、CHE 基からわずかに化学構造を変えた一連の脂環式官能基を側鎖に導入した PAsp(DET/R)を合成し、培養細胞への mRNA 送達効率を評価している。第 2 章で得られた結果と同様に、 $\log D$ の高い PAsp(DET/R)が効率的な mRNA 送達能を持ち、特にシクロヘキシルプロピル基とシクロヘプチルエチル基を持つ誘導体が最も高い mRNA 送達能を持つことを見出している。また、相対的に低い $\log D$ を持つ PAsp(DET/R)から調製された polyplex は、血清タンパク質の表面吸着によりナノ粒子が不安定化し、内包 mRNA の分解が生じることで、mRNA 送達能が制限されることを明らかにしている。

第 4 章では、第 3 章で調製した PAsp(DET/R)からなる mRNA 内包 polyplex をマウスの静脈内へ投与することで、各 polyplex の生体環境下での mRNA 送達能を評価している。結果として、mRNA 内包 polyplex は肺において特に高い mRNA 発現を誘導すること、および R 基に基づく肺での mRNA 発現効率の違いは培養細胞実験の結果と概ね一致することを明らかにしている。また、mRNA 発現効率の違いは、逆転写 PCR 法により定量された mRNA の組織集積量とよく一致したことから、ある一定以上の $\log D$ を持つ PAsp(DET/R)から調製された polyplex は、血流中でも効果的に mRNA を保護し、肺などの臓器へ効率良く集積するものと考察されている。

第 5 章では、一連の研究結果を総括するとともに、今後の展望を述べている。

以上、本論文では、核酸分子送達効率の向上および送達効率に寄与する高分子材料パラメーターを明らかにするために、疎水性官能基に焦点を当て、核酸分子内包 polyplex の物理化学的評価から細胞・動物実験に至る多角的な検討を行っている。一連の評価を通じて、カチオン性高分子の疎水性度が送達効率に大きく寄与することを見出すとともに、生体内環境下で優れた送達能を有するカチオン性高分子の創出に成功している。本研究で得られた知見および材料設計指針は、薬物送達を中心とするバイオマテリアル研究に大きく貢献するものと判断される。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。